

本文引用: 温梦昕, 李思媛, 刘颖芳, 陈光宇, 谢梦洲, 李 亮. 基于液质及代谢组学方法分析补阳还五汤灌胃大鼠前后血脑中成分差异[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(2): 250–258.

## 基于液质及代谢组学方法分析补阳还五汤灌胃 大鼠前后血脑中成分差异

温梦昕<sup>1,2</sup>, 李思媛<sup>1,2</sup>, 刘颖芳<sup>1,2</sup>, 陈光宇<sup>1,2</sup>, 谢梦洲<sup>1,2</sup>, 李 亮<sup>1,2\*</sup>

1. 湖南中医药大学中医诊断学湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208; 2. 湖南中医药大学中医心肺病症辨证与药膳食疗重点研究室, 湖南 长沙 410208

**[摘要]** **目的** 研究补阳还五汤(BYHWD)及灌胃给药前后大鼠血清和脑组织中的天然产物成分和内源性代谢产物差异, 为该复方的作用机制提供参考。**方法** 将20只大鼠平均分为2组, 中药组(25.65 g·kg<sup>-1</sup>)和空白组(给予等量生理盐水)各10只, 每天给药1次, 连续给药3 d, 第4天给药2 h后, 腹主动脉取血并断头取脑组织。采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术, 对BYHWD、正常大鼠血清、脑组织和灌胃给药大鼠血清、脑组织天然产物及代谢产物进行分析。**结果** 从BYHWD中共指认出90个天然产物成分; 大鼠灌胃BYHWD后, 发现25个入血成分, 10个入脑成分, 其中5个成分能同时入血入脑。代谢组学分析发现, 血清内源性差异成分主要涉及亚油酸代谢、类固醇激素生物合成、苯丙氨酸代谢等8条代谢通路。脑组织内源性代谢差异成分主要涉及视黄醇代谢、类固醇激素生物合成、咖啡因代谢等9条代谢途径。**结论** 通过分析BYHWD的天然产物成分、灌胃大鼠前后血脑中成分差异及相关代谢途径, 可为阐明BYHWD有效成分及其作用机制提供参考。

**[关键词]** 补阳还五汤; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱; 代谢组学; 天然产物; 内源性代谢产物

**[中图分类号]** R284

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.02.008

## Component differences in blood and brain of rats before and after intragastric administration of Buyang Huanwu Decoction based on liquid chromatography-mass spectrometry and metabolomics approaches

WEN Mengxin<sup>1,2</sup>, LI Siyuan<sup>1,2</sup>, LIU Yingfang<sup>1,2</sup>, CHEN Guangyu<sup>1,2</sup>, XIE Mengzhou<sup>1,2</sup>, LI Liang<sup>1,2\*</sup>

1. Hunan Key Laboratory of Chinese Medicine Diagnostics, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Key Laboratory of Chinese Medicine Heart and Lung Syndrome Differentiation & Medicated Diet and Dietotherapy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the differences in natural product components and endogenous metabolites in rat serum and brain tissue before and after intragastric administration of Buyang Huanwu Decoction (BYHWD), and to provide a reference for elucidating the mechanism of action of this Chinese compound formula. **Methods** Twenty rats were equally divided into two Chinese medicines group (administered with BYHWD at 25.65 g·kg<sup>-1</sup>) and blank group (administered with an equal volume of saline), with ten rats in each group. The medicine was administered once daily for three consecutive days. On the fourth day, two hours after administration, blood was collected from the abdominal aorta and brain tissue was obtained by decapitation. Ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) was used to analyze the natural products and metabolites in BYHWD, as well as in the serum and brain tissue of normal rats and rats after intragastric

**[收稿日期]** 2024-10-09

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(82374323); 湖南省自然科学基金面上项目(2022JJ30435); 湖南省卫生健康委科研计划项目(C202302087602); 湖南中医药大学研究生创新课题(2023CX180, 2024CX153); 湖南中医药大学本科科研创新基金(2023BKS024)。

**[通信作者]** \* 李 亮, 男, 博士, 教授, E-mail: superliliang@126.com。

administration of BYHWD. **Results** Ninety natural product components were identified in BYHWD. After intragastric administration of BYHWD to rats, 25 components were found in the serum and ten in the brain tissue, with five components detected in both. Metabolomics analysis revealed that the endogenous differential components in serum primarily involved in eight metabolic pathways, including linoleic acid metabolism, steroid hormone biosynthesis, and phenylalanine metabolism. The endogenous metabolic differential components in the brain tissue were primarily associated with nine metabolic pathways, including retinol metabolism, steroid hormone biosynthesis, and caffeine metabolism. **Conclusion** By analyzing the natural product components of BYHWD, the differences in components in the serum and brain tissue of rats before and after intragastric administration, and the related metabolic pathways, this study provides a reference for elucidating the active components of BYHWD and its mechanism of action.

[**Keywords**] Buyang Huanwu Decoction; ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry; metabolomics; natural products; endogenous metabolites

补阳还五汤(Buyang Huanwu Decoction, BYHWD)出自清代名医王清任的《医林改错·下卷·瘫痿论》,由黄芪、当归尾、赤芍、地龙、川芎、红花、桃仁7味药组成,具有补气活血、祛瘀通络的作用。黄芪为补药之长,尤善于补气,气旺则血行,祛瘀而不伤正,并助诸药之力,为君药;配以当归活血,有祛瘀而不伤好血之妙,为臣药;川芎、赤芍、桃仁、红花助当归活血祛瘀,地龙通经活络,均为佐使药。诸药合用,温阳行气,使气旺血行,瘀祛络通,诸证自可渐愈。原书<sup>[1]</sup>记载“此方治半身不遂,口眼喎斜,语言蹇涩,口角流涎,下肢痿废,小便频数,遗尿不禁”。最新研究表明,BYHWD有增强脑部能量代谢,抵抗自由基损伤,促进神经修复与再生,抑制神经细胞自噬与凋亡,抑制炎症反应,改善微循环和促进新血管再生等功效<sup>[2-3]</sup>。近年来,BYHWD在心脑血管疾病、神经系统疾病及糖尿病肾病等多种疾病方面均有良好的治疗效果<sup>[4-6]</sup>。

BYHWD由于其显著的生物活性及复杂多样的代谢产物,受到了来自植物化学、有机化学、药理学、分子生物学等多个领域研究者的高度关注<sup>[7]</sup>。中药的疗效是其化学物质成分在体内传递和代谢转化后生物效应的综合体现。通常情况下,中药有效成分需要吸收入血、到达靶器官并作用于相应靶点后才能发挥药效作用。代谢组学具有系统性、动态性的特点,与中医学的“整体观”“辨证观”相吻合,被广泛地应用于中药的作用机制研究。因此,从“药材成分—入血成分—入脑成分”的传递与代谢过程开展研究,对阐明中药有效成分、实现中药现代化具有重要意义。

本研究采用的超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(ultra-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry,UPLC-Q-TOF-MS)技术具有动态扫描范围宽、分离性能佳及分辨率和灵敏度高等特点,在天然产物的成分分析以及代谢组学方面具有广泛的应用<sup>[8]</sup>。因此,建立此方法分析BYHWD灌胃大鼠前后血脑中成分差异可阐明其发挥作用的有效成分及参与的主要代谢途径,为该方作用机制研究提供科学依据。

## 1 主要仪器与材料

超高效液相色谱仪-四级杆-飞行时间质谱仪(美国ABSCIEXDISTRIBUTION公司);N-301010L旋转蒸发器(日本东京理化);ZWL-PA110超纯水机(湖南中沃水务环保科技);HTP-312型300 g-0.01 g-电子天平(上海花潮电器);TGL18W高速冷冻离心机(长沙英泰仪器有限公司)。

黄芪(批号:23082903),红花(批号:23100805),川芎(批号:24012304),赤芍(批号:2023102502),当归尾(批号:20231202),地龙(批号:24032901),桃仁(批号:24012601)以上中药饮片均购于湖南千金药材有限公司,经湖南中医药大学药学院王智副教授鉴定为正品,符合《中华人民共和国药典》<sup>[9]</sup>要求,水为超纯水,甲酸、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

雄性SPF级SD大鼠,体质量200~220 g,由湖南中医药大学实验动物中心订购。动物实验许可证号:SCXK(湘)2019-0004,质量合格证号:430727241100830714,本实验经湖南中医药大学实验动物伦理委员会审查通过(伦理审批编号:HUCM21-2311-01)。

## 2 方法

### 2.1 BYHWD 提取浓缩液的制备

按照 BYHWD 处方配比(黄芪 120 g,当归尾 6 g,赤芍 4.5 g,川芎 3 g,地龙 3 g,桃仁 3 g,红花 3 g)称取处方量药材,第 1 次提取加 10 倍量水,先冷浸 30 min,再加热回流提取 30 min,过滤,对药渣进行第 2 次提取加 8 倍量水,加热回流提取 30 min,合并两次滤液,60 °C 减压浓缩(N-3010 旋转蒸发器,日本东京化学工业公司),得 BYHWD 提取浓缩药液,每 1 mL 对应 2 g 药材,置于 4 °C 冰箱冷藏,备用。

### 2.2 动物的分组、灌胃及取材

将 20 只大鼠随机分为 2 组,空白组和中药组各 10 只。中药组灌胃 BYHWD 25.65 g·kg<sup>-1</sup>(按照体表面积药物剂量换算公式<sup>[10]</sup>计算,相当于 70 kg 成人剂量的 2 倍),空白组给予等量生理盐水。每天给药 1 次,连续给药 3 d,第 4 天给药 2 h 后,用含异氟烷的小型动物气体麻醉器(GOWE F680,中国长沙林科有限公司)麻醉。固定大鼠后,取腹主动脉取血 5 mL,转入肝素化聚乙烯管,4 000 r/min 离心 30 min 得到血清。拔针后立即断头取大鼠脑组织,放入冻存管中。所有样品立即在-80 °C 的超低温冰箱中冷冻,以备后续使用。

### 2.3 UPLC-Q-TOF-MS 分析供试品的制备

取 0.2 mL 的 BYHWD 水提浓缩液置于 10 mL 离心管中,加甲醇至 10 mL 刻度,涡旋 2 min,以 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心(TGL18W 型高速冷冻离心机,长沙盈泰仪器有限公司)30 min,收集上清液,用 0.22 μm 微滤膜过滤,得到 BYHWD 供试液。

精确吸取 0.3 mL 各血清样本,转移至 2 mL 离心管。加入 900 μL 乙腈,涡旋 2 min,以 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心(TGL18W 型高速冷冻离心机,长沙盈泰仪器有限公司)30 min,收集上清液,用 0.22 μm 微滤膜过滤,得到血清供试液。

将脑组织称重,放入 1.5 mL 离心管中,离心管中有 4 个直径为 3 mm 的钢珠,加入 3 倍体积的生理盐水。研磨样品(Bioprep-24R 生物样品均质仪,杭州奥晟仪器有限公司,研磨转速为 3 500 r·min<sup>-1</sup>,升力 5.75 m·s<sup>-2</sup>,研磨时间 90 s,间隙时间 10 s,8 次循环)12 min。以 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心(TGL18W 型

高速冷冻离心机,长沙盈泰仪器有限公司)30 min。将 500 μL 上清液移入 2 mL 离心管中,与 900 μL 乙腈混合旋转 2 min,以 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心(TGL18W 型高速冷冻离心机,长沙盈泰仪器有限公司)30 min。收集上清液,用 0.22 μm 微滤膜过滤,得到血清供试液。

### 2.4 UPLC-Q-TOF-MS 分析供试品中天然产物及内源性代谢成分

采用 UPLC-Q-TOF-MS(Exion LC AD 超高效液相色谱系统与美国 AB SCIEX 公司生产的 X-500R 飞行时间质谱联用)分析各供试品中天然产物及内源性代谢成分。采用 Luna Omega-C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.6 μm, Phenomenex, USA)进行色谱分离。以 100% 甲醇和含 0.1% 甲酸(V/V)的超纯水分别作为流动相 A 和 B,采用两步梯度洗脱程序:0~5 min 5% A,5~20 min 5%~100% A,20~24 min 100% A,24~25 min 100%~5% A,25~30 min 5% A。流速设定为 0.30 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 10 μL。采用全扫描模式采集高分辨率质谱数据,质荷比范围为 100~1 000(m/z)。利用能量为(35±15) eV 的高能碰撞解离获得了 MS/MS 碎片。为保证 UPLC-Q-TOF-MS 工作的稳定性,在运行序列中每隔 6 个样品进行 1 个质控样品分析。根据精确的质量(质量误差<5 ppm)、MS/MS 二级片段和标准品确认,鉴定代谢产物的结构。

## 3 结果

### 3.1 UPLC-Q-TOF-MS 分析各供试品中天然产物成分差异

在正、负离子模式下对甲醇空白对照、BYHWD 药物、大鼠空白血清、灌胃给药大鼠血清、大鼠空白脑组织、灌胃给药大鼠含药脑组织供试液采集总离子流图。详见图 1—2。

### 3.2 BYHWD 及其含药血清、含药脑组织中各类化合物分析

本研究通过 UPLC-Q-TOF-MS 技术快速分析后从 BYHWD 复方中发现 90 个天然产物成分。采用 2.2 项下条件对中药组和对照组血清及脑组织进行分析,结果发现中药组血清中相对于空白组血清中多了 25 个成分,说明这些成分可被吸收入血,即中药入血成分。而中药组脑组织中相对于空白组脑

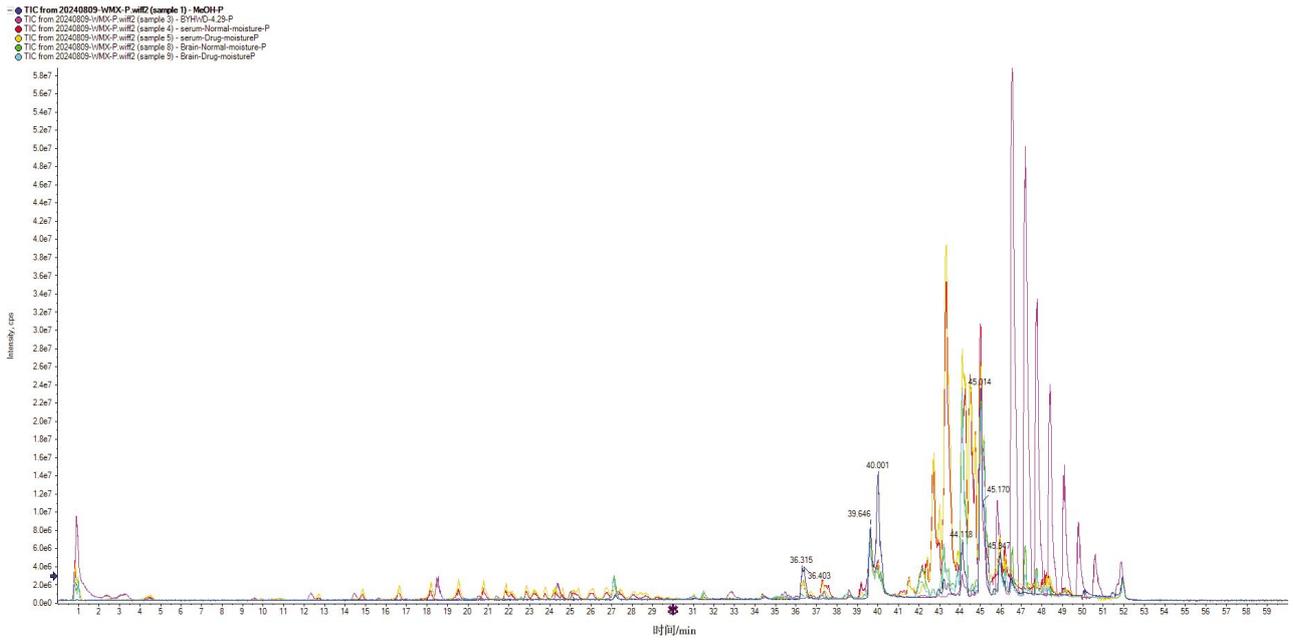


图 1 正离子模式下总离子流图

Fig.1 Total ion current diagram in positive ion mode

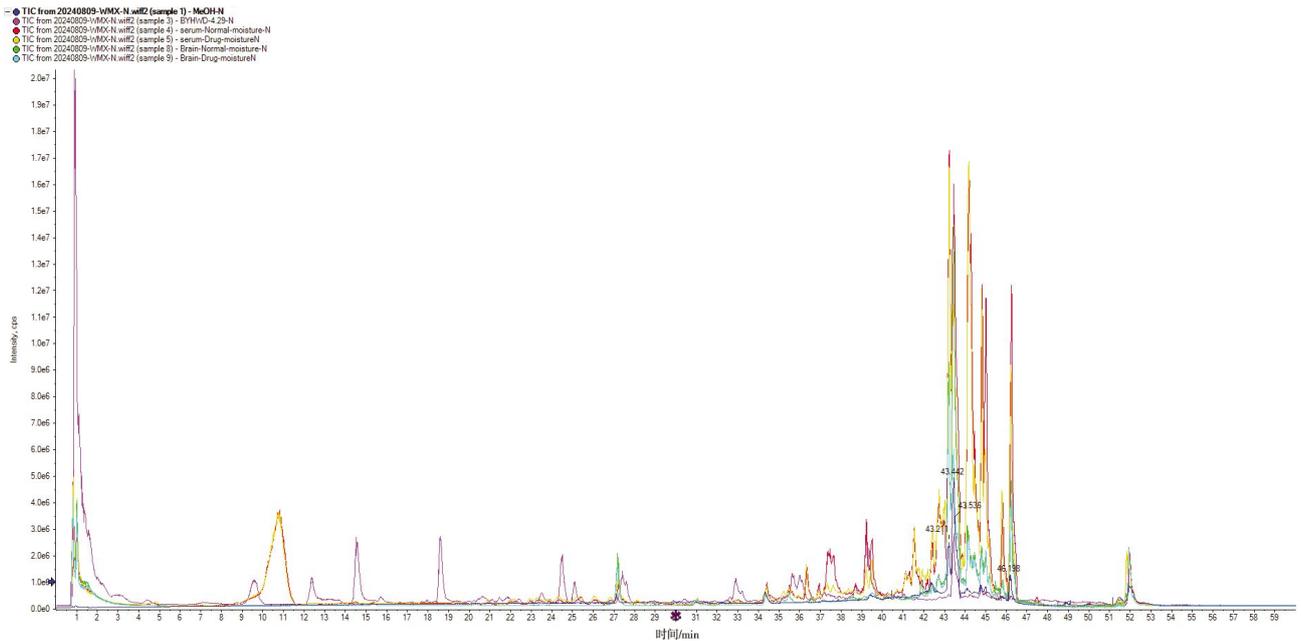


图 2 负离子模式下总离子流图

Fig.2 Total ion current diagram in negative ion mode

注: MeOH-甲醇空白对照; BYHWD-补阳还五汤; Serum-Normal-空白血清; Serum-Drug-含药血清; Brain-Normal-空白脑组织; Brain-Drug-含药脑组织。

组织中多了 10 个成分,说明这些成分可被吸收入脑,即中药入脑成分。5 个化学成分能同时在BY-HWD、入血成分及入脑成分中找到,分别是大豆皂苷 Be、黄豆苷元、芒柄花素、毛蕊异黄酮苷以及山柰素。详见图 3—4。

以上结果显示, BYHWD 及其在大鼠血清和

脑组织中的主要成分为黄酮类、糖苷类和酚酸类等。黄酮类化合物主要来源于方中君药黄芪,检测出的主要黄酮为毛蕊异黄酮、芒柄花素、山柰酚等。糖苷类成分主要检测出黄芪甲苷、苦杏仁苷、芍药苷、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷等。酚酸类成分主要检测出有阿魏酸、没食子酸、绿原酸等。

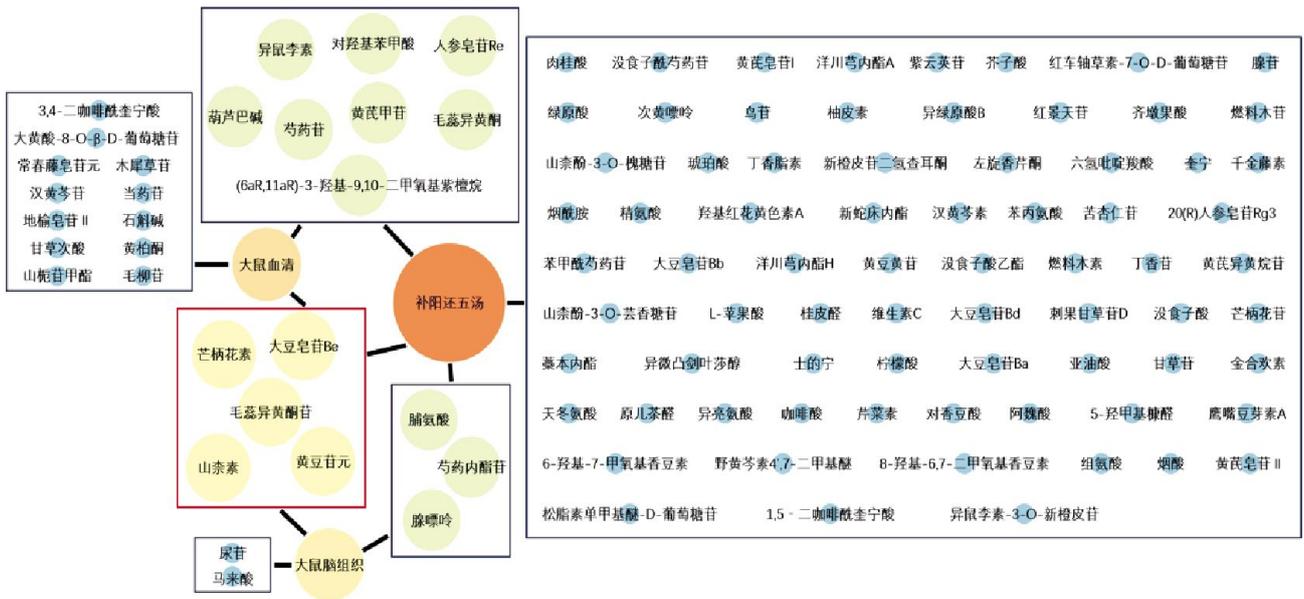


图 3 BYHWD 及入血、入脑具体天然产物成分

Fig.3 Specific natural product components of BYHWD and their absorption into blood and brain

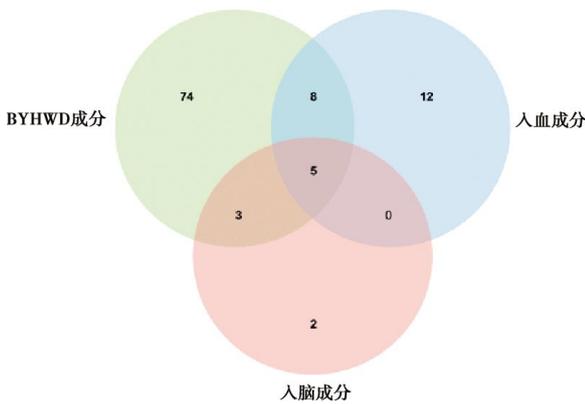


图 4 BYHWD 及入血成分、入脑成分韦恩图

Fig.4 Venn diagram of BYHWD components absorbed into blood and brain

### 3.3 UPLC-Q-TOF-MS 分析各供试品中内源性代谢成分差异

采用基于 UPLC-Q-TOF-MS 的非靶向代谢组

学方法,分析 BYHWD 灌胃大鼠前后血清、脑组织中内源性代谢成分差异。在 ESI(+)和 ESI(-)中,两个重复 QC 样品的高系数( $R^2>0.99$ )证明了本研究代谢组学分析的准确性。在 ESI(+)和 ESI(-)模式下,分别产生了 287 个和 253 个离子特征。通过 SIM-CA 14.1 对这些内源性代谢物进行 PCA 分析,结果详见图 5。

主成分分析结果表明,在正离子和负离子模式下,每组内的样本都表现出很强的聚类性,置信度为 95%。值得注意的是,在不同的群体之间有一个明确的划分。为了更直观地描述组间差异,在监督模式下进行了进一步的 OPLS-DA 分析,并进行了排列检验。详见图 6。

OPLS-DA 分析显示,空白组和中药组之间存在

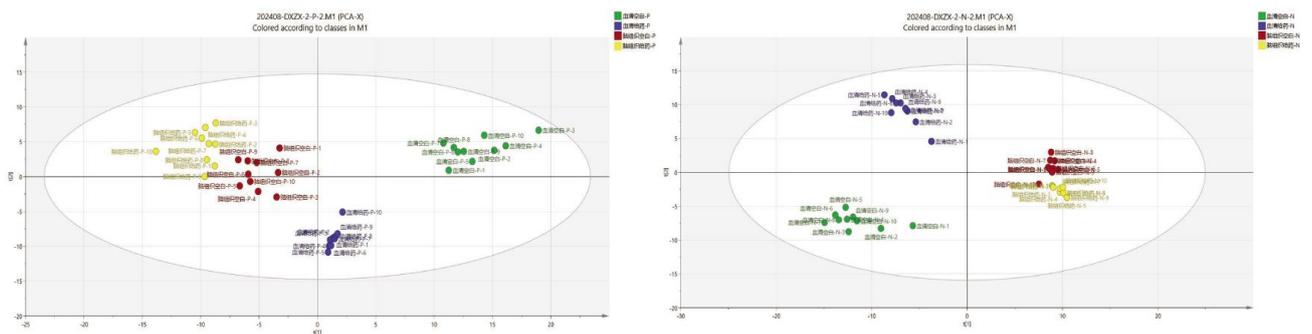


图 5 正离子(左)和负离子(右)模式下大鼠血清样品 PCA 评分图

Fig.5 PCA score plot of rat serum samples in positive ion (left) and negative ion (right) modes

明显的分离,表明由于药物干预,大鼠血清及脑组织代谢谱发生了实质性变化。在 OPLS-DA 模型中,空白组和中药组之间的大鼠血清代谢物和脑组织代谢物存在显著差异。模型对数据的解释能力用  $R^2$  和  $Q^2$  值表示,在正离子模式下, $R^2_x=0.568, R^2_y=0.926, Q^2=0.978$ ;在负离子模式下, $R^2_x=0.607, R^2_y=0.932, Q^2=0.956$ ,具有一定的预测能力。

OPLS-DA 的 200 次置换检验表明, $Q^2$  值均位于统一线以下,且  $Q^2$  在纵轴上的回归线呈现负截距,不存在过拟合,预测能力较强。

以  $VIP>1.0, FC<0.8$  或  $>1.2, P<0.05$  为标准,采

用 OPLS-DA 模型鉴定差异代谢物;随后,生成火山图。详见图 7—8。

通过查询 HMDB 等数据库并整合次级片段离子数据,将鉴定出的差异代谢物与空白组和中药组的内源性代谢物进行比较。分析发现,在血清中,中药组显著下调 173 种代谢物,上调 96 种代谢物,而在脑组织中,中药组显著下调 133 种代谢物,上调 127 种代谢物。中药组与空白组灌胃大鼠在血清中与 269 各个内源性代谢成分有差异,在脑组织中与 256 各个内源性代谢成分上有差异。

血清和脑组织内源性代谢差异成分的数据分别

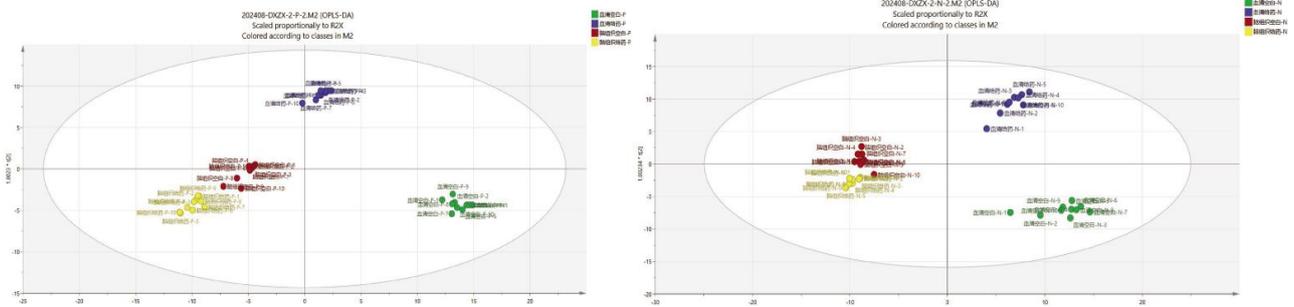


图 6 正离子(左)和负离子(右)模式下大鼠血清样品 OPLS-DA 评分图

Fig.6 OPLS-DA score plot of rat serum samples in positive ion (left) and negative ion (right) modes

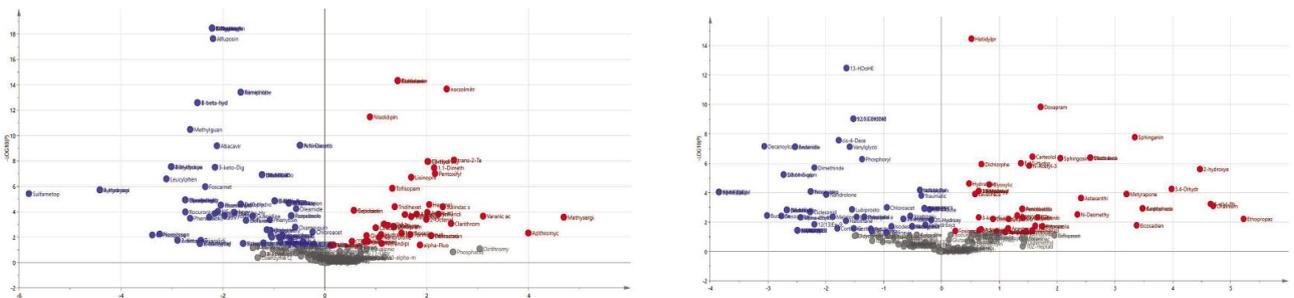


图 7 正(左)、负(右)离子模式下组大鼠血清差异代谢物火山图

Fig.7 Volcano plot of differential metabolites in rat serum in positive (left) and negative (right) ion modes

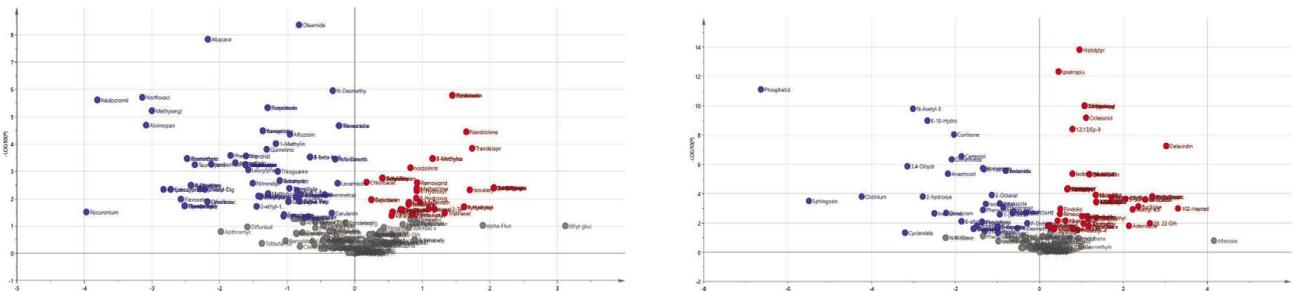


图 8 正(左)、负(右)离子模式下大鼠脑组织差异代谢物火山图

Fig.8 Volcano plot of differential metabolites in rat brain tissue in positive (left) and negative (right) ion modes

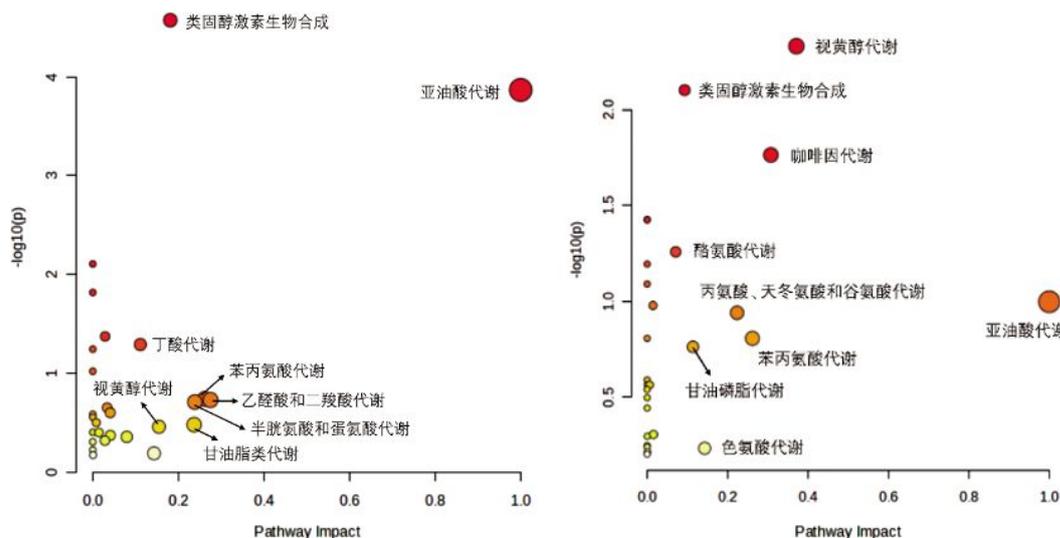


图9 BYHWD 灌胃大鼠后中药组与空白组在血清(左)和脑组织(右)中代谢通路的差异  
**Fig.9** Comparison of metabolic pathways in serum (left) and brain tissue (right) between the Chinese medicines group and the blank group after intragastric administration of BYHWD

通过 MetaboAnalyst 网站进行相关代谢途径分析。与空白组相比, BYHWD 影响血清 8 条代谢途径, 包括亚油酸代谢、类固醇激素生物合成、苯丙氨酸代谢、丁酸代谢、乙醛酸和二羧酸代谢、半胱氨酸和蛋氨酸代谢、甘油酯类代谢、视黄醇代谢等。受 BYHWD 影响的脑组织代谢途径有 9 条, 包括视黄醇代谢, 类固醇激素生物合成, 咖啡因代谢, 亚油酸代谢, 酪氨酸代谢, 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢, 苯丙氨酸代谢, 甘油磷脂代谢, 色氨酸代谢。详见图 9。

#### 4 讨论

通过对 BYHWD 及其含药血清、含药脑组织中各类成分分析发现有 5 种天然产物成分可以同时 BYHWD 及入血成分、入脑成分中找到。分别是大豆皂苷 Be、黄豆苷元、芒柄花素、毛蕊异黄酮苷以及山柰素。有研究发现, 大豆皂苷具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、调节免疫力、调节脂质代谢、保护肝脏等多种生理活性<sup>[11]</sup>。黄豆苷元可调节 Nrf2/HO-1 信号通路, 延缓细胞衰老, 增强细胞抗氧化能力, 抑制细胞氧化应激<sup>[12]</sup>, 同时可结合细胞内雌激素受体或直接刺激激活细胞内相关基因表达, 发挥抗癌、抗高血压和抗神经元病变等功能<sup>[13]</sup>。毛蕊异黄酮苷和芒柄花素为黄芪中主要代表成分, 具有调节免疫、抗氧化、抗突

变、抗肿瘤、抗心肌缺血、防止动脉粥样硬化、抗炎、抗心律失常、抗病毒、抗细胞凋亡等作用<sup>[14]</sup>。山柰素具有多种生物活性, 包括抗癌、抗炎、抗氧化、抗菌、抗病毒以及抗光老化等活性<sup>[15]</sup>, 在肺癌、胃溃疡及糖脂代谢的相关疾病中也发挥出有利的作用<sup>[16-19]</sup>。因此, 上述 5 种成分可被视为 BYHWD 发挥药效的关键成分, 值得作为重点研究对象进行深入探究。

通过非靶向代谢组学方法对 BYHWD 灌胃大鼠后在血清和脑组织中的差异代谢物及通路进行研究, 结果发现与脑组织相比, 血清对半胱氨酸和蛋氨酸代谢、丁酸代谢和乙醛酸和二羧酸代谢等途径有影响。相反, 与血清相比, 脑组织在丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、咖啡因代谢、酪氨酸代谢和色氨酸代谢等方面表现出影响。

半胱氨酸和蛋氨酸是重要的含硫氨基酸, 参与蛋白质合成、抗氧化防御和甲基化反应, 半胱氨酸与蛋氨酸、赖氨酸等其他氨基酸之间存在互作效应, 其适宜比例可对生产性能、蛋白质合成及转化效率等方面产生积极的影响<sup>[20]</sup>。目前, 已发现半胱氨酸可促进氨基酸代谢, 并具有解毒抗菌和保护肠道的功效, 是影响动脉粥样硬化、肾上腺嗜铬细胞瘤等疾病的主要代谢通路之一<sup>[21-22]</sup>。丁酸是一种短链脂肪酸, 主要由肠道微生物产生, 经门静脉进入血液, 抑制组蛋

白脱乙酰酶和调节细胞代谢对许多基因表达的强大大调节作用<sup>[23-24]</sup>。研究发现,丁酸可通过影响炎症反应、脂质代谢、氧化应激、肠道功能屏障等途径影响心血管疾病发生。并在动脉粥样硬化、心脏自主神经系统紊乱、高血压等疾病的发生、发展过程中起重要作用<sup>[25]</sup>。乙醛酸和二羧酸代谢过程涉及多种有机酸的转化,可影响肠道微生物菌群和糖代谢,和能量代谢、脂质代谢过程密切相关<sup>[26]</sup>。BYHWD对这些代谢途径的影响可能有助于维持机体的抗氧化状态和甲基化平衡,同时对肠道健康和能量代谢有积极影响,并在能量供应和脂肪酸的代谢调节方面发挥作用。

丙氨酸,天冬氨酸和谷氨酸代谢是重要的神经递质和能量代谢中间产物,研究发现该代谢途径是神经退化、抑郁症、心肌缺血、肝癌等疾病中的潜在靶点<sup>[27-30]</sup>。咖啡因是一种中枢神经系统兴奋剂,通过阻断腺苷受体发挥作用。咖啡因体内代谢过程复杂,适度使用咖啡因可兴奋神经,在神经退行性疾病中起到保护作用<sup>[31]</sup>,而大剂量或长期使用咖啡因可引起惊厥、肝肾损伤、呼吸道炎症等疾病<sup>[32]</sup>。酪氨酸是合成儿茶酚胺的重要前体,酪氨酸降解途径在动物中必不可少,若中断将导致严重的代谢疾病。已有研究表明酪氨酸及其代谢产物与早期癌症及神经学改变具有重要关联性<sup>[33-35]</sup>。BYHWD对这些代谢途径的影响可能与神经传递、神经保护和能量代谢有关,同时也可能影响神经系统的兴奋性和认知功能,以及神经递质的合成。因此推断 BYHWD 可通过入血参与抗氧化防御、能量代谢和脂肪酸代谢等途径。同时可通过入脑发挥神经传递、神经保护和情绪调节等作用。

本研究虽然已筛选出 BYHWD 及入血入脑的主要天然产物成分及相关代谢通路但因其针对的疾病较多且病因复杂,仅采用液质及非靶向代谢组学得出的结果缺乏特征性和专属性,难以全面阐释其作用机制,在后续的研究过程中,可以利用液质及靶向代谢组学深入探究 BYHWD 干预各类疾病的确切机制。

## 参考文献

- [1] 王清任. 医林改错[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 36.
- [2] 亓鹏浩. 补阳还五汤治疗脑中风的理论溯源及研究进展[J/OL]. 辽宁中医杂志, 1-7[2024-09-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1128.R.20240625.1048.004.html>.
- [3] 肖美凤, 刘金玲, 杨岩涛, 等. 补阳还五汤的研究现状及其新药创制关键技术[J]. 中草药, 2018, 49(7): 1688-1694.
- [4] 欧阳银, 曾繁佐, 刘镇奎, 等. 补阳还五汤介导 Cav1 调控 Wnt 通路对脑缺血小鼠神经细胞凋亡的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2024, 31(11): 104-109.
- [5] 张 赛, 周 岚, 梅晓云. 补阳还五汤治疗周围神经系统疾病的研究进展[J]. 海南医学, 2016, 27(6): 975-977.
- [6] 杨 帆, 张晓云, 高俊侠, 等. 加减补阳还五汤通过 SIRT1 途径激活自噬改善糖尿病肾病小鼠肾组织损伤[J]. 天津中医药, 2024, 41(4): 495-502.
- [7] 汪子毓, 安 帆, 刘汉伍, 等. 岐山金丝桃中 2 个新的糖苷类化合物[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(12): 3242-3251.
- [8] 黄若童, 戎雪雯, 付晓洁, 等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法鉴定黄大茶化学成分[J]. 色谱, 2024, 42(9): 837-855.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版 二部:[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [10] 陈 安, 张建伟, 伍校琼, 等. 补阳还五汤对红核脊髓束横断后神经元的保护作用[J]. 中国临床解剖学杂志, 2007(6): 665-668.
- [11] 朱力杰, 潘月影, 李英燕, 等. 大豆皂苷结构及生理活性研究进展[J]. 食品科学技术学报, 2024, 42(1): 69-82.
- [12] 王 萱, 刘亚辉, 李 勇, 等. 黄豆苷元对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导 H9c2 细胞衰老的保护作用[J]. 大豆科学, 2022, 41(4): 472-479.
- [13] 周成健. 黄豆苷元调节小鼠 C2C12 细胞脂肪沉积的作用及分子机理[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2020.
- [14] 孙玉平, 龚苏晓, 曹 煌, 等. 不同加工方法的蒙古黄芪药材中毛蕊异黄酮苷和芒柄花素定量分析[J]. 中草药, 2015, 46(11): 1678-1681.
- [15] 戴雯妮. 山奈素治疗糖尿病肾病的疗效及机制研究[D]. 长沙: 中南大学, 2023.
- [16] 郑晟超, 毛佳斌, 何大强. 山奈素通过下调 circ-RPL15 抑制肺癌细胞 A549 的增殖和迁移[J]. 温州医科大学学报, 2021, 51(12): 960-967.
- [17] 吕帅宜, 林开文, 邓雨婷, 等. 山奈素对小鼠乙醇型胃溃疡的影响及其机制[J]. 江苏大学学报(医学版), 2021, 31(6): 517-521, 540.
- [18] TIE F F, DING J, HU N, et al. Kaempferol and kaempferide

- attenuate oleic acid-induced lipid accumulation and oxidative stress in HepG2 cells[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(16): 8847.
- [19] KIM D, HWANG H Y, JI E S, et al. Activation of mitochondrial TUFM ameliorates metabolic dysregulation through coordinating autophagy induction[J]. *Communications Biology*, 2021, 4(1): 1.
- [20] 张子怡, 金艳华, 李洪根, 等. 半胱氨酸的生物代谢及其在动物生产中的应用研究进展[J]. *中国畜牧杂志*, 2024, 60(1): 25-30.
- [21] BLACHIER F, ANDRIAMIHAJA M, BLAIS A. Sulfur-containing amino acids and lipid metabolism[J]. *The Journal of Nutrition*, 2020, 150: 2524S-2531S.
- [22] 来 翀, 杨庆玲, 张雨诺, 等. 肾上腺嗜铬细胞瘤影响三条主要代谢通路: 半胱氨酸-蛋氨酸代谢、嘧啶代谢和酪氨酸代谢通路[J]. 2024, 25(5): 410-422.
- [23] PANT K, VENUGOPAL S K, LORENZO PISARELLO M J, et al. The role of gut microbiome-derived short-chain fatty acid butyrate in hepatobiliary diseases[J]. *The American Journal of Pathology*, 2023, 193(10): 1455-1467.
- [24] QIN L S, YAO W L, WANG T X, et al. Targeting gut microbiota-derived butyrate improves hepatic gluconeogenesis through the cAMP-PKA-GCN5 pathway in late pregnant sows[J]. *Food & Function*, 2022, 13(8): 4360-4374.
- [25] 王 莹, 刘 康, 周 芳, 等. 肠道微生物代谢物丁酸在心血管疾病中的作用[J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2024, 38(6): 457-461.
- [26] 李亚赛, 乔 木, 吴俊静, 等. 乙醛酸和二羧酸通路中 MCEE 和 PCCA 基因多态性影响猪肌内脂肪含量的研究[J]. *中国畜牧杂志*, 2024, 60(11): 114-119.
- [27] ALTINÉ-SAMEY R, ANTIÉ D, MAVEL S, et al. The contributions of metabolomics in the discovery of new therapeutic targets in Alzheimer's disease[J]. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 2021, 35(3): 582-594.
- [28] 胡 婷, 吴振宁, 许 腾, 等. 柴归颗粒动态调控 CUMS 大鼠尿液代谢标志物抗抑郁机制研究[J]. *药物评价研究*, 2024, 47(10): 2287-2300.
- [29] 贾志鑫, 潘明霞, 刘力榕, 等. 基于代谢组学的速效救心丸抗心肌缺血作用机制研究[J]. *中草药*, 2022, 53(15): 4719-4729.
- [30] 刘洋洋, 王凯迪, 夏丹旒, 等. 基于细胞代谢组学技术的知母皂苷元作用于肝癌细胞 HepG2 机制研究[J]. *沈阳药科大学学报*, 2023, 40(2): 164-172.
- [31] KOLAHDOUZAN M, HAMADEH M J. The neuroprotective effects of caffeine in neurodegenerative diseases[J]. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2017, 23(4): 272-290.
- [32] 郭延奎, 师 萱, 阳 勇, 等. 咖啡因在大鼠及小鼠肝微粒体中体外代谢种属差异研究[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(10): 1926-1932.
- [33] TADDEI M L, PARDELLA E, PRANZINI E, et al. Role of tyrosine phosphorylation in modulating cancer cell metabolism[J]. *Biochimica et Biophysica Acta Reviews on Cancer*, 2020, 1874(2): 188442.
- [34] DE OLIVEIRA J, FARIAS H R, STRECK E L. Experimental evidence of tyrosine neurotoxicity: Focus on mitochondrial dysfunction[J]. *Metabolic Brain Disease*, 2021, 36(7): 1673-1685.
- [35] 梁先玉, 李 斌, 万益群. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定生物体液中的酪氨酸及其代谢产物[J]. *分析科学学报*, 2019, 35(4): 411-416.

(本文编辑 苏 维)